基于 mtDNA Cytb 的六种果实蝇的分子鉴定
（双翅目：实蝇科）

朱振华[1,2]，**叶　辉**[1*]，**张智英**[1]

（1. 云南大学生命科学学院，昆明　650091；2. 云南省农业科学院粮作所，昆明　650205）

摘要：本研究首次对果实蝇属的桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*、瓜实蝇 *B. cucurbitae*、南瓜实蝇 *B. tau*、番石榴实蝇 *B. correcta*、具条实蝇 *B. scutellata*、黑漆实蝇 *B. scutellaris* 等 6 种实蝇 mtDNA Cytb 基因进行了测序。对这 6 种实蝇 72 个个体 mtDNA Cytb 基因中段 420 bp 的碱基序列进行分析，得到 38 种单倍型，发现了 116 个变异位点，其中 30 个位点较为稳定。对这 6 种实蝇与其各自鉴别位点的对应关系研究表明，mtDNA Cytb 基因可以作为这 6 种实蝇种类鉴别的分子标记。

关键词：双翅目；实蝇科；果实蝇属；线粒体 DNA；细胞色素 b 基因；分子鉴定

中图分类号：Q969　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2005)03-0386-05

Molecular identification of six *Bactrocera* species (Diptera：Tephritidae) based on mtDNA

ZHU Zhen-Hua[1,2], YE Hui[1*], ZHANG Zhi-Ying[1] (1. College of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China; 2. Institute of Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

Abstract：The mtDNA Cytb genes of 6 fruit fly species, including *Bactrocera dorsalis*, *B. cucurbitae*, *B. correcta*, *B. tau*, *B. scutellata* and *B. scutellaris*, were sequenced. Based on the analysis of mtDNA Cytb 420 bp sequences from 72 individuals of the 6 species, we identified 38 haplotypes and detected 116 variable sites, of which 30 variable sites were highly conserved. The studies of the relationship between the 6 fruit flies and their respective identification sites suggested that mtDNA cytb sequences could be used as the molecular marker in identification of the 6 fruit fly species.

Key words：Diptera; Tephritidae; *Bactrocera*; mtDNA; cytochrome b gene; molecular identification

果实蝇属 *Bactrocera* 昆虫隶属双翅目（Diptera）实蝇科（Tephritidae），俗称实蝇（fruit fly），多为农业害虫，可危害 250 余种水果和蔬菜，目前主要分布于非洲、亚洲的部分地区、澳大利亚及南太平洋的热带地区（汪兴鉴，1995；梁广勤等，1996）。实蝇类昆虫对寄主瓜果的危害主要表现为：成虫产卵于寄主瓜果内，在瓜果表面形成产卵孔；幼虫蛀食瓜果果肉，导致受害瓜果变质腐烂（Ye，2001；施伟和叶辉，2004）。由于实蝇类昆虫寄主范围广、繁殖力强、危害性大，因而被许多国家列为重要的检疫性害虫（Soutnwood and Comins，1976；汪兴鉴，1995；陈乃中，1998）。

云南位于热带和亚热带地区，是我国西南地区重要的边境口岸。桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis*、瓜实蝇 *B. cucurbitae*、南瓜实蝇 *B. tau*、番石榴实蝇 *B. correcta*、具条实蝇 *B. scutellata* 和黑漆实蝇 *B. scutellaris* 等，是该地区进口瓜果蔬菜中常见的害虫种类，如何防止该类昆虫随同进境瓜果传入国内是当地检验检疫部门的一项重要工作（蒋小龙，2002）。迄今为止，对实蝇类昆虫的鉴别主要依据其成虫外部形态特征，但从受害瓜果中截获到的实蝇多数是卵和幼虫，而多数果实蝇的卵和幼虫在形态学上无明显差别，难以进行种类鉴定。因此，检疫部门只能将检疫截获到的果实蝇饲养到成虫后，才可能基于其形态鉴别特征确定其种类。显然，这一检疫程序费时耗力，难以满足进口瓜果快速通关的要求。2004 年以来，我国与东南亚在水果蔬菜上实行零关税贸易，进出口农产品猛增，尽快探讨一套快速、准

基金项目：国家重点基础研究发展规划项目（2003CB415100）；国家自然科学基金项目（30260023）；云南省自然科学基金项目（2003C0007M）
作者介绍：朱振华，男，1970 年生，硕士，从事昆虫分子生态方面的研究，E-mail：zhzhh86@126.com

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：yehui@ynu.edu.cn
收稿日期 Received：2004-11-12；接受日期 Accepted：2005-04-15

确、有效的实蝇鉴定技术已势在必行。

采用分子生物学技术开展昆虫种类鉴定，可以解决不能通过果实蝇卵、幼虫形态特征进行种类鉴定的问题。上世纪 80 年代以来，同工酶、染色体核型以及 DNA 探针等分子生物技术已经被用于多种昆虫的鉴定研究（Berlocher，1980；Drew and Hardy，1981；梁广勤等，1994；David *et al*.，1994）。动物 mtDNA 属母系遗传，为双链闭环结构，基因序列组成相对保守，无重组和单拷贝，并易于检测。昆虫 mtDNA 平均进化速率是单拷贝核 DNA 的 1～2 倍，长度为 15.4 kb 到 16.3 kb 左右，包括 12～13 个编码蛋白质的基因。由于其结构和进化上的特点，mtDNA 多被作为研究物种进化的重要分子标记（Vigilan *et al*.，1991；张亚平和施立明，1992；施伟和叶辉，2004）。在 mtDNA 各基因中，Cytb 基因的结构和功能研究得比较清楚（Moritz *et al*.，1987；Gray，1989），因其碱基序列稳定性较高而常用于动物类群的系统进化和分类鉴定研究（Jermiin and Grozier，1994；Sheppard *et al*.，1996；David *et al*.，1998；任竹梅等，2003）。

本研究以桔小实蝇、瓜实蝇、南瓜实蝇、番石榴实蝇、具条实蝇和黑漆实蝇等 6 种实蝇作为研究对象，通过对这 6 种实蝇 mtDNA Cytb 基因序列的测定和对比分析，探讨利用 Cytb 基因序列开展实蝇昆虫分子鉴定的可行性，为下一步构建各种实蝇昆虫的快速分子鉴定和检测技术积累基础资料。

1　材料和方法

1.1　供试样品

本研究采用的桔小实蝇、瓜实蝇、南瓜实蝇、番石榴实蝇、具条实蝇和黑漆实蝇均为成虫干标本，其采集地点、时间及数量等如表 1 所示。

表 1 供试实蝇种类、数量、及采集的时间和地点

Table 1　Species, numbers and localities of the tested insects

种类 Species	代号 Code	采集地点 Localities	样品数量 Number of samples	采集日期 Collection date
桔小实蝇 *B. dorsalis*	J	河口 Hekou	5	2003.5
		昆明 Kunming	5	2003.7
番石榴实蝇 *B. correcta*	F	河口 Hekou	10	2003.5
具条实蝇 *B. scutellata*	T	河口 Hekou	9	2003.5
黑漆实蝇 *B. scutellaris*	H	河口 Hekou	5	2003.5
		昆明 Kunming	5	2003.7
南瓜实蝇 *B. tau*	N	河口 Hekou	10	2003.5
瓜实蝇 *B. cucurbitae*	G	西双版纳 Xishuangbanna	5	2003.5
		瑞丽 Ruili	6	2003.6
		河口 Hekou	7	2003.5
		元江 Yuanjiang	5	2003.5

1.2　总 DNA 提取

供试实蝇经 TE（10 mmol/L Tris，1 mmol/L EDTA，pH 9.0）缓冲液浸泡 24～48 h，用无菌水清洗，单头分别放入 1.5 mL 的 Eppendorf 管中，用匀浆器将其磨碎，然后参照关秀杰等（2004）采用的酚/氯仿法，逐一提取各实蝇个体总 DNA，将各实蝇个体总 DNA 样品置于 –20℃冰箱中保存、备用。

1.3　PCR 扩增及序列测定

扩增的目的片段为 mtDNA Cytb 基因中段长度为 433 bp 的一段序列。用于扩增 Cytb 基因片段的引物是 CB1 和 CB2（Simon，1994），其序列分别为：

CB1：5′-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3′；CB2：5′-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3′。引物由上海申友生物技术有限公司合成。

PCR 反应的总体积为 50 μL，其中含有 5 μL 10 × Buffer，4 μL Mg^{2+}（25 mmol/L），1.5 μL dNTP，引物（10 pmol/L）各 4 μL，0.4 μL Taq DNA 聚合酶（5 U/μL），2 μL 模板 DNA。扩增条件为 94℃预变性 2 min，接着进行 35 个热循环：94℃变性 1 min，44℃退火 1 min，72℃延伸 1.5 min，最后在 72℃充分延伸 5 min，同时，以 ddH_2O 代替模板 DNA 作空白对照。扩增产物的大小、纯度和亮度用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 粗产物的纯化及测序委托上海申友生物技术有限公司完成。测序反应均在 ABI100-377 测序仪上进行。

1.4　DNA 序列数据处理

用 DNAstar 软件中的 Editseq 程序进行序列编辑，用 DNAStar 软件中的 MegAlign 程序进行 DNA 同

源序列排列，并人工核对校正。通过 MEGA version 2.1（Kumar *et al*.，2001）软件统计确定 6 种实蝇在 Cytb 基因部分序列间的碱基替换数，基于 Kimura-2-Parameter 双参数模型分析，并计算出各实蝇种间遗传距离。采用 DNAStar 软件中的 MegAlign 程序，基于 CLUSTAL 程序，对同种实蝇不同个体之间的 Cytb 序列遗传差异进行分析。

2 结果

经电泳检测表明，用引物 CB1、CB2 扩增得到的 PCR 产物中没有外源 DNA 污染或外源 DNA 核拷贝，测序结果标明所获得的基因序列为 mtDNA Cytb 区序列。本研究得到的这 6 种实蝇的 mtDNA Cytb 基因序列已在 GenBank 中注册，其登录序列号见后。

2.1 6 种实蝇种间关系遗传分析

表 2 展示了 6 种实蝇之间的平均遗传距离、碱基替换数及种内个体间序列差异。6 种实蝇在所测 Cytb 基因碱基序列上存在差异，其碱基替换数为 13 ~ 37，遗传距离在 0.05924 ~ 0.19133 之间。同种实蝇不同个体之间，DNA 碱基序列差异较小，且相当稳定，遗传距离为 0 ~ 0.019（表 2）。上述表明，基于 mtDNA Cytb 基因的碱基序列，可以将这 6 种实蝇区别开来，即 Cytb 基因序列可以作为这 6 实蝇分子鉴别的依据。

表 2 6 种实蝇 Cytb 基因序列的碱基替换数（对角上）和遗传距离（对角下）及种内序列差异（对角线）

Table 2 Number of substitution (above diagonal) and genetic distance (below diagonal) between 6 *Bactrocera* species, and sequence difference (along diagonal) within each *Bactrocera* species

	桔小实蝇 *B. dorsalis*	瓜实蝇 *B. cucurbitae*	南瓜实蝇 *B. tau*	番石榴实蝇 *B. correcta*	具条实蝇 *B. scutellata*	黑漆实蝇 *B. scutellaris*
B. dorsalis	0 ~ 0.019	37	37	26	37	32
B. cucurbitae	0.19133	0 ~ 0.007	13	37	29	24
B. tau	0.18131	0.05924	0 ~ 0.012	35	27	23
B. correcta	0.12294	0.19013	0.17138	0 ~ 0.017	34	33
B. scutellata	0.17383	0.14641	0.12387	0.16240	0 ~ 0.019	16
B. scutellaris	0.15305	0.11754	0.10966	0.16313	0.06902	0 ~ 0.017

2.2 基因位点分析

用 DNAStar 软件对 6 种实蝇 72 个个体的 Cytb 基因序列加以排序比较，最终从 433 bp 基因序列中获得各实蝇个体较为完整 420 bp 的序列片段。对该序列片段分析发现了 116 个变异位点，检测到 38 个单倍型。这 38 个单倍型序列已在 GenBank 中注册，注册序号分别为 AY953488 ~ AY953506，AY912183 ~ AY912188，AY956582 ~ AY956590 和 AY956592 ~ AY956595。这 116 个变异位点无任何碱基的插入和缺失，其中 30 个位点非常稳定，可以作为信息鉴别位点。经综合对比分析表明，这 30 个信息鉴别位点可以将这 6 种实蝇逐一区分出来。如在表 3 中，位点 87、225、306、342 和 402 能将桔小实蝇与其他 5 种实蝇区分开来；位点 45、120、141、162 和 185 能将瓜实蝇与其他实蝇区分开；位点 198 和 213 可将南瓜实蝇从其他 5 种实蝇中区分辨出来；位点 69、70、228、261、282、313、319、357 和 382 可把番石榴实蝇与其他实蝇区分开；位点 102、105、177 和 408 则可把具条实蝇与其他实蝇区分开。位点 24 能同时区分桔小实蝇和瓜实蝇；位点 300 和 375 能同时区分桔小实蝇和番石榴实蝇；位点 312 能同时区分瓜实蝇和南瓜实蝇。位点 90 是唯一能区分黑漆实蝇与其他实蝇的鉴别位点。

3 讨论

随着现代分子生物技术的发展，利用特定 DNA 片段对生物进行种类鉴定，已经成为再次或深入认识生物种分类地位及种间亲缘关系的一个重要手段。基因片段或信息位点是区分生物种类的辅助工具之一，已逐步应用于动植物种类鉴定中。李正西和沈佐锐（2002）利用 rDNA-ITS2 序列探讨了赤眼蜂属不同种分子鉴定的可行性。Fushimi 等（1996）对人参属 3 种药用植物人参、西洋参和竹节参的 18S rDNA 基因片段进行了测序分析，发现其中 4 个基因位点可用于人参及相关药材鉴定。Ngan 等（1999）利用核糖体 ITS1-5.8S-ITS2 的 DNA 序列对人参属 6 种药用植物以及 2 种常见的人参伪品紫茉莉和商陆进行了有效鉴定。Zhao 等（2001）应用 rDNA-ITS 序列鉴定了山姜属红豆蔻及其同属相似种。王建云等（1996）通过对鸡内金和鸭内金的 mtDNA Cytb 基因约 143 bp 片段的分析发现，该片段的 36 个碱基对可

表 3　6 种实蝇 Cytb 基因部分序列的信息鉴别位点

Table 3　Identification sites of mitochondrial cytb partial sequence in 6 *Bactrocera* species

鉴别位点 Identification sites	桔小实蝇 *B. dorsalis*	瓜实蝇 *B. cucurbitae*	南瓜实蝇 *B. tau*	番石榴实蝇 *B. correcta*	具条实蝇 *B. scutellata*	黑漆实蝇 *B. scutellaris*
24	T	G	A	A	A	A
45	A	T	A	A	A	A
69	A	T	T	G	T	A
70	A	A	A	G	A	A
87	G	A	A	A	A	A
90	A	A	A	A	A	G
102	C	C	C	C	T	C
105	T	T	T	T	A	T
120	A	C	T	A	T	T
141	C	T	C	C	C	C
162	T	C	T	T	T	T
177	C	T	T	T	A	C
198	C	A	G	C	A	A
213	T	T	A	T	T	T
225	C	T	T	T	T	T
228	A	A	A	T	A	A
261	C	C	C	T	C	C
282	T	T	T	C	T	T
285	T	C	T	T	T	T
300	T	A	A	C	A	A
306	C	T	T	T	T	T
312	A	C	T	A	A	A
313	C	C	C	T	C	C
319	C	C	C	T	C	C
342	T	C	C	C	C	C
357	A	A	A	C	A	A
375	C	A	A	T	A	A
382	T	T	T	C	T	T
402	C	T	T	T	T	T
408	A	C	C	A	T	C

D 以作为区分鸡内金和鸭内金的分子标记。目前，将基因位点作为信息位点进行物种鉴定，在植物上用得较多而在动物上用得较少，利用 mtDNA Cytb 基因序列探讨果实蝇分子鉴定迄今尚无报道。

本文通过对桔小实蝇、瓜实蝇、南瓜实蝇、番石榴实蝇、具条实蝇和黑漆实蝇等 6 种实蝇 mtDNA Cytb 基因序列的对比分析表明，该基因片段的 30 个基因位点具有较高的稳定性，可以作为上述 6 种实蝇分子鉴定的依据。鉴于这 6 种果实蝇的 mtDNA Cytb 基因在部分序列上差异较大，可以考虑将其作为实蝇分子遗传标记进一步加以研究，如设计特异性引物、限制性酶切分析，以及在其他果实蝇中进行同基因片段的对比分析等。本项研究的积极意义在于利用 mtDNA Cytb 基因序列对 6 种实蝇分子鉴定的可行性进行了探讨。更重要的是，本研究为构建 PCR 特异性鉴定引物的设计，并根据变异位点设计 PCR-RFLP 鉴定实蝇技术提供了必要的基础数据，而这将是我们下一步研究工作的重点。应用特定 DNA 序列鉴定桔小实蝇及其近缘种，比传统形态学、细胞遗传学和生物化学（染色体核型分析、同工酶电泳技术等）等方法有更多的优点，如：不要求标本完整，不受活体标本的限制，也不会因虫态和组织器官不同而异。DNA 测序是对遗传物质的直接分析，可以排除蛋白质分析等由于基因在表达过程中可能发生的变化而引起的差异。由此，分子生物学鉴定方法可以成为其他昆虫种类鉴定方法的重要补充。

致谢　总 DNA 的提取和 PCR 扩增等是在云南省工业微生物发酵工程重点实验室进行的，实验得到云南大学生物系施伟硕士、沙涛实验师、陈善元博士、以及张宏瑞博士的帮助，施伟对本文的修改提供了宝贵的意见和建议，谨此致谢。

参 考 文 献(References)

Berlocher SH, 1980. An electrophoresis key for distinguishing species of the genes *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae) as larvae, pupae or adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 73 (2): 131 – 137.

Chen NZ, 1998. Insect of quarantine fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Plant Quarantine*, 12 (5): 298. [陈乃中, 1998. 具有检疫意义的果实害虫——实蝇科(部分属种). 植物检疫, 12 (5): 298]

Drew RAI, Hardy DE, 1981. *Dacus* (*Bactrocera*) *opiliae*, a new sibling species of the *dorsalis* complex of fruit flies from Northern Australia (Diptera: Tephritidae). *J. Aust. Ent. Soc.*, 20: 131 – 137.

David H, Tina T, Chari T, 1994. DNA probes can be used to discriminate between tephritid species at all stages of life cycle (Diptera: Tephritidae). *J. Econo. Entomol.*, 87 (3): 741 – 746.

David H, Ibrahim KM, Hewitt GM, 1998. mtDNA phylogeography and postglacial patterns of subdivision in the meadow grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Heredity*, 80: 633 – 641.

Fushimi H, Komatsu K, Isobe M, 1996. 18S ribosomal RNA gene sequences of three *Panax* species and the corresponding ginseng drugs. *Biol. Pharm. Bull.*, 19 (11): 1 530 – 1 532.

Gray MW, 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Cell Biol.*, 5: 25 – 50.

Guan XJ, Fu Q, Wang GR, Lai FX, Zhang ZT, 2004. The DNA polymorphism of host-associated populations of *Nilaparvata lugens* with different virulence. *Acta Entomol. Sinica*, 47 (2): 152 – 158. [关秀杰, 傅强, 王桂荣, 赖凤香, 张志涛, 2004. 不同致害性褐飞色种群的 DNA 多态性研究. 昆虫学报, 47(2): 152 – 158]

Jiang XL, 2002. Risk analysis of quarantine fruit flies along Yunnan border. *J. Southwest Agri. Uni.*, 24(5): 402 – 405. [蒋小龙, 2002. 云南边境检疫性实蝇风险分析研究. 西南农业大学学报, 24(5): 402 – 405]

Jermiin LS, Crozier RH, 1994. The cytochrome b region in the mitochondrial DNA of the ant *Tetraponeru rufoniger*: sequence divergence in Hymenoptera may be associated with nucleotide content. *J. Mol. Evol.*, 38: 282 – 294.

Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M, 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*, 17 (12): 1 244 – 1 245.

Liang GQ, Yang GH, Liang F, 1994. Identification of *Bactrocera* pupae (Diptera: Tephritidae) using chromsome and isozymes technology. *Plant Quarantine*, 8 (1): 4 – 9. [梁广勤, 杨国海, 梁帆, 1994. 利用染色体和同工酶技术鉴定寡毛实蝇幼虫. 植物检疫, 8 (1): 4 – 9]

Liang GQ, Yang GH, Liang F, 1996. Insects of *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) in Asia-Pacific Area. Guangdong: Guangdong Science & Technology Press. [梁广勤, 杨国海, 梁帆, 1996. 亚太地区寡毛实蝇. 广东: 广东科技出版社]

Li ZX, Shen ZR, 2002. Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. *Acta Entomol. Sinica*, 45 (5): 559 – 566. [李正西, 沈佐锐, 2002. 赤眼蜂分子鉴定技术研究. 昆虫学报, 45 (5): 559 – 566]

Moritz C, Dowling TE, Brown WM, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematic. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 18: 269 – 292.

Ngan F, Shaw PC, But PH, 1999. Molecular authentication of *Panax* species. *Phytochemistry*, 50: 787.

Ren ZM, Ma EB, Guo YP, 2003. Mitochondrial DNA sequence and relationships of *Oxya intricata* individuals from different parts of China. *Acta Entomol. Sinica*, 46 (1): 51 – 57. [任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2003. 不同地域小稻蝗 mtDNA 部分序列及其相互关系. 昆虫学报, 46 (1): 51 – 57]

Shi W, Ye H, 2004. Genetic differentiation in five geographic populations of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) in Yunnan province. *Acta Entomol. Sinica*, 47 (3): 384 – 388. [施伟, 叶辉, 2004. 云南桔小实蝇五个地理种群的遗传分化研究. 昆虫学报, 47 (3): 384 – 388]

Soutnwood TRE, Comins HN, 1976. A synoptic population model. *J. Animal Ecol.*, 45: 949.

Sheppard WS, Rinderer TE, Meixner MD, Yoo HR, Stelzer JA, Schiff NM, Kamel SM, Krell R, 1996. Variation in mitochondrial DNA of old world honey bee subspecies. *J. Heredity*, 87 (1): 35 – 40.

Simon C, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 87 (6): 650 – 701.

Vigilan L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K, Wilson AC, 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*, 253 (5 027): 1 503 – 1 507.

Wang JY, Wang W, Su P, Tian BP, He GX, Fang L, Zhang ZY, Zhang YP, 1996. Study on identification of chicken brisson using DNA sequence analysis. *Journal of China Pharmaceutical University*, 27 (8): 471 – 475. [王建云, 王文, 宿兵, 田保平, 何广新, 方岚, 朱昭云, 张亚平, 1996. DNA 序列分析技术鉴定鸡内金的方法学研究. 中国药科大学学报, 27 (8): 471 – 475]

Wang XJ, 1995. *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) pest of important fruit and vegetable. *Plant Quarantine*, 9(1): 20 – 30. [汪兴鉴, 1995. 重要果蔬有害实蝇概论(双翅目). 植物检疫, 9 (1): 20 – 30]

Ye H, 2001. Distribution of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Yunnan Province. *Entomol. Sinica*, 8: 175 – 182.

Zhang YP, Shi LM, 1992. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: a review. *Zoological Research*, 13 (3): 289 – 298. [张亚平, 施立明, 1992. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况. 动物学研究, 13 (3): 289 – 298]

Zhao ZL, Zhou KY, Dong H, 2001. Characters of mtDNA ITS region sequences of fruits of *Alpinia galanga* and their adulterants. *Planta Medica*, 67: 381.

(责任编辑: 袁德成)